Università degli Studi di Padova – Dipartimento di Ingegneria Industriale
Laurea Triennale in Ingegneria Chimica e dei Materiali

Design and Development of a Microfluidic Device for Immune Cell and Patient-Derived Hydrogel Integration in a 3D Colorectal Cancer Model

Tutor universitario: Prof.ssa Elisa Cimetta

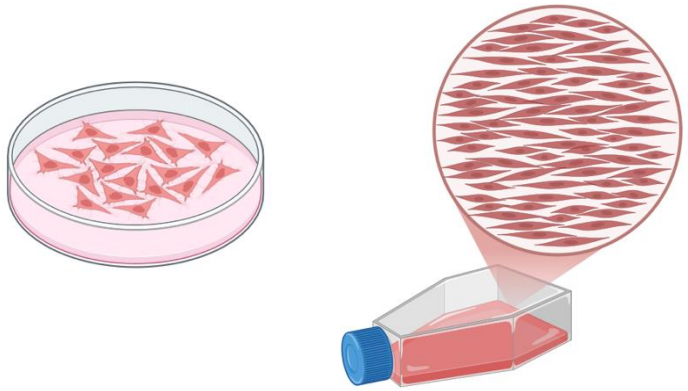
Co-tutor: Ing. Eleonora Zanrè

Laureanda: Lia Menel

Padova, 21/07/2025

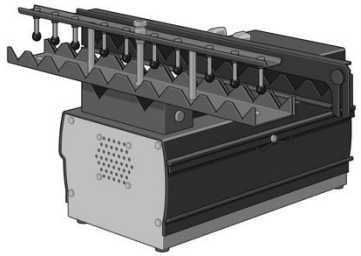
MICROFLUIDICA vs COLTURA CELLULARE CONVENZIONALE

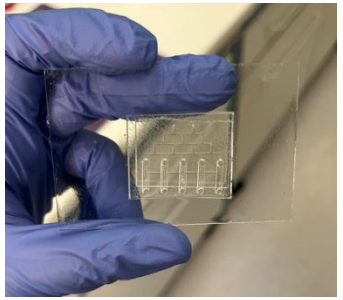
COLTURA CELLULARE CONVENZIONALE

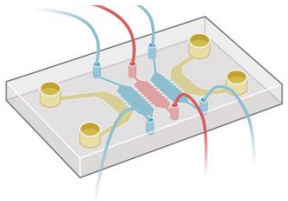


- Volumi elevati (**mL**) → costi maggiori
- Flusso turbolento / condizioni statiche
- Maggiori tempi dell'esperimento
- Minore controllo ambientale → incapacità di generare gradienti stabili

MICROFLUIDICA





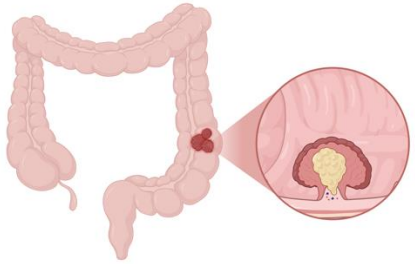


- Volumi ridotti (**µL**) → costi minori
- Flusso laminare controllato
- Minori tempi dell'esperimento
- Modelli 3D complessi e fisiologici → possibilità di generare gradienti stabili nello spazio e nel tempo

CANCRO COLORETTALE (CRC) E ORGANOIDI (PDOs)

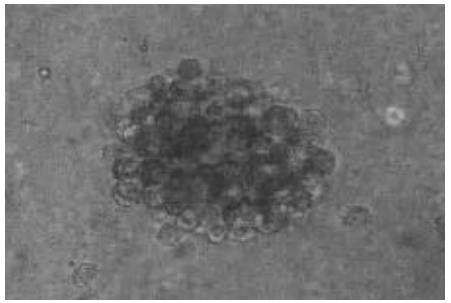
CANCRO COLORETTALE (CRC)

- Alta incidenza
- Complesso **microambiente tumorale**
- **Inefficienza** del trattamento chemioterapico



ORGANOIDI DERIVATI DA PAZIENTE (PDOs)

- Modelli 3D *in vitro* **derivati da tessuti del paziente**
- Mimano strutture **organo-specifiche**
- Interazioni cellula-cellula realistiche



Organoide di CRC, ingrandimento 10x

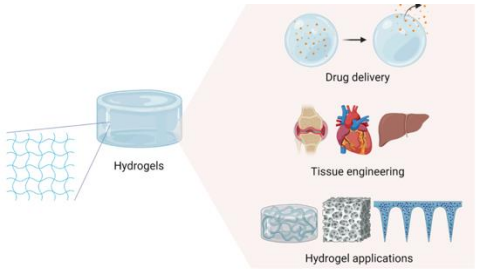
CRC ORGANOIDS-ON-A-CHIP

- **Integrazione microfluidica** → modello più sofisticato
- Flusso dinamico, gradienti controllati, co-culture → **microambiente fisiologicamente rilevante**
- Previsione più accurata delle risposte *in vivo* → **test farmacologici migliorati**

MATRICE EXTRACELLULARE (ECM) E IDROGEL dECM

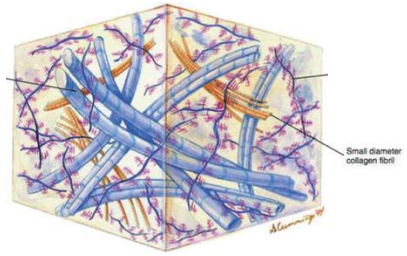
IDROGEL

- Network 3D di catene polimeriche interconnesse
- Altamente **idrofilici** → possibilità di trattenere liquidi senza dissolversi
- Sintetici, naturali o ibridi



MATRICE EXTRACELLULARE (ECM)

- Scaffold non cellulare presente nei tessuti umani
- Ambiente altamente dinamico



IDROGEL DA MATRICE EXTRACELLULARE DECELLULARIZZATA (dECM)

- Ottenuto da biopsie di pazienti sani → **decellularizzazione**
- Mima caratteristiche tessuto-specifiche → microambiente realistico per simulazioni *in vitro*
- Formulazione **1%** w/v

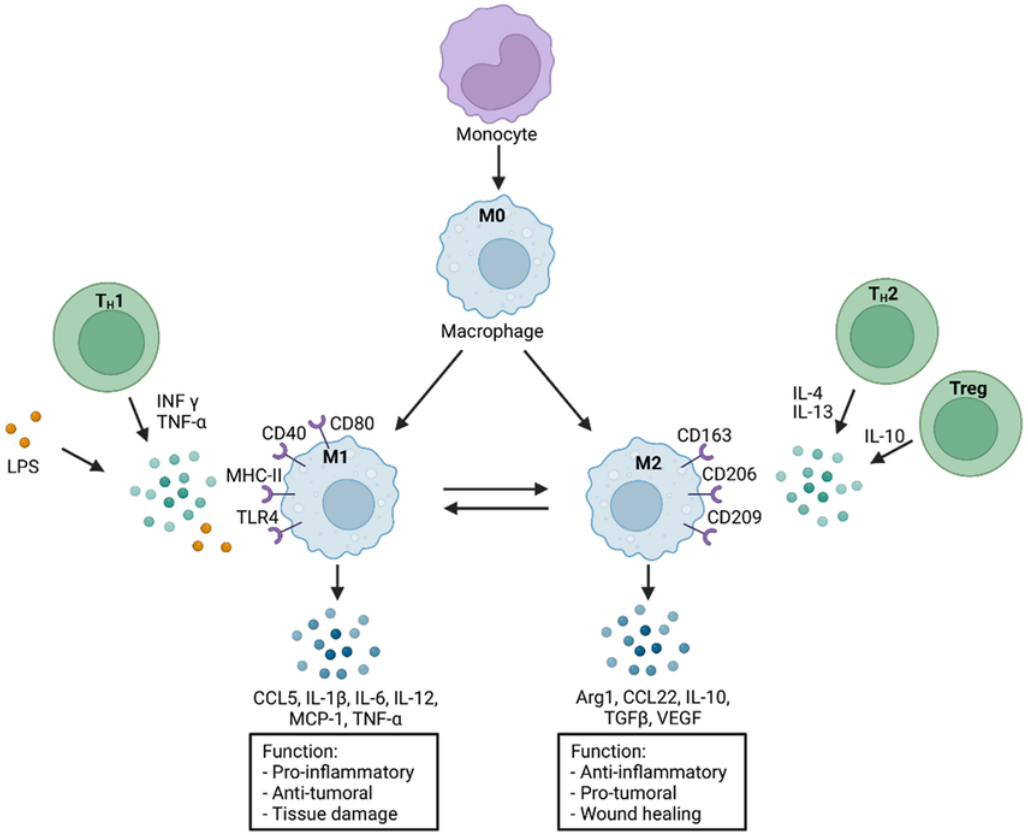
MONOCITI (THP-1) E MACROFAGI ASSOCIATI AL TUMORE (TAMs)

MONOCITI (THP-1)

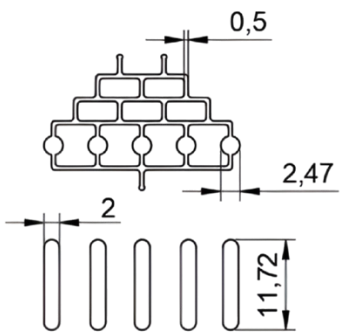
- Cellule chiave del **sistema immunitario**
- **THP-1**; linea cellulare monocitica
- Contribuiscono a crescita tumorale e metastasi
- Possono differenziarsi in macrofagi

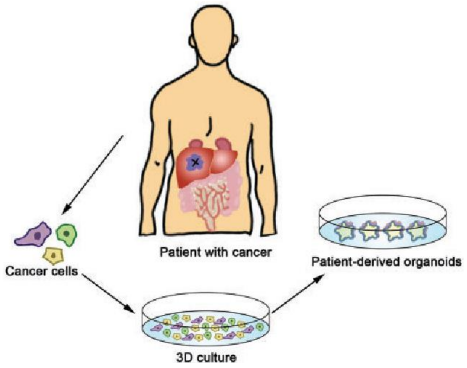
MACROFAGI ASSOCIATI AL TUMORE (TAMs)

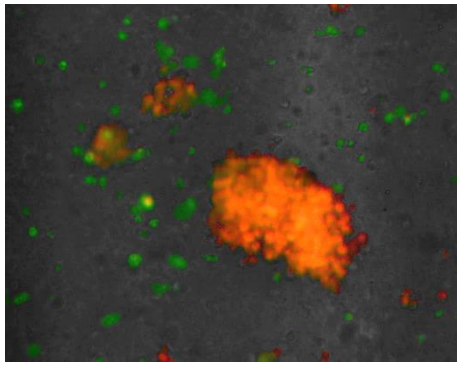
- **M1** = sopprimono il tumore
- **M2** = favoriscono la progressione del tumore



OBBIETTIVI DELLO STUDIO







PROGETTAZIONE E PRODUZIONE PIATTAFORMA MICROFLUIDICA

- CAD
- Simulazione COMSOL Multiphysics
- Validazione fluidodinamica
- *Soft* litografia
- *Replica molding*

PRODUZIONE dECM IDROGEL E DERIVAZIONE PDOs

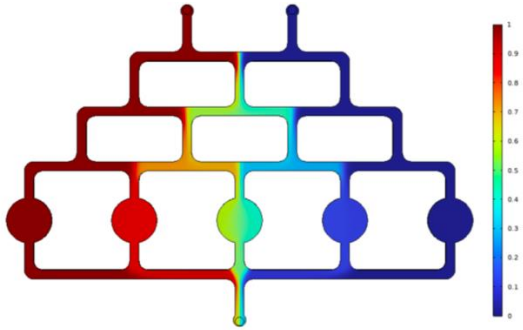
- Derivazione PDOs
- Produzione idrogel da dECM (1% w/v)
- Protocollo di semina

VITALITÀ E THP-1

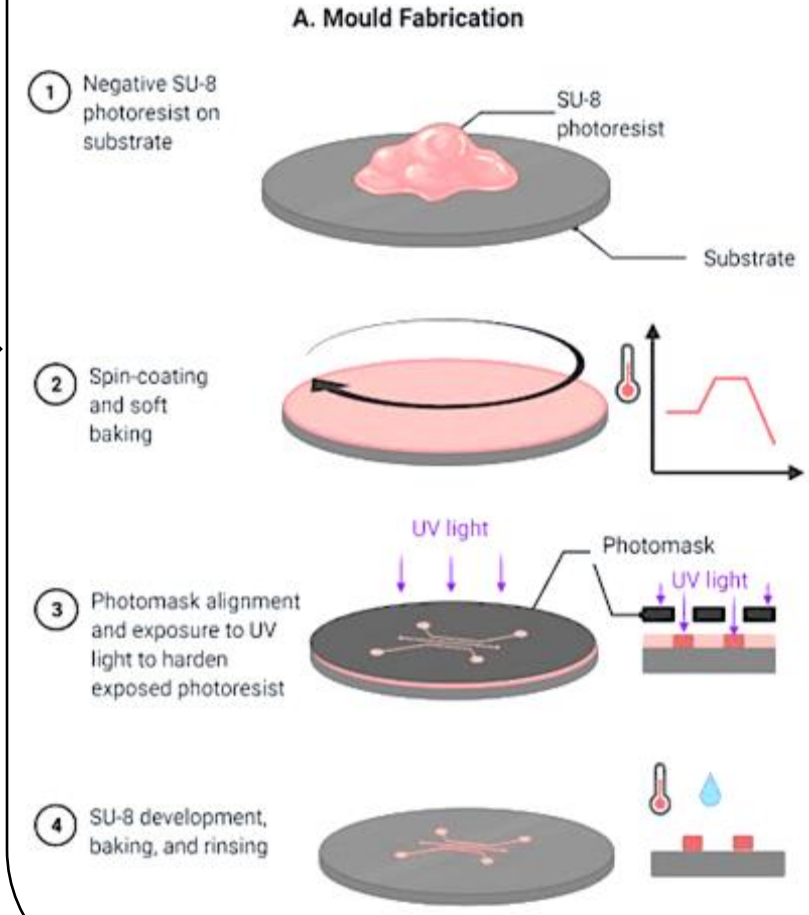
- Vitalità THP-1 in dECM idrogel
- Misurazione perimetri CRC PDOs
- Vitalità post-trattamento 5-FU

PROGETTAZIONE DELLA PIATTAFORMA MICROFLUIDICA

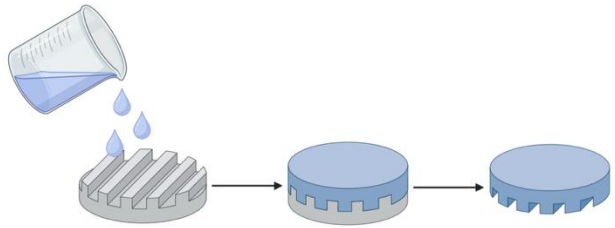
Progettazione CAD 2D e simulazioni con COMSOL Multiphysics®



Produzione di master in silicio mediante tecnica di soft-litografia

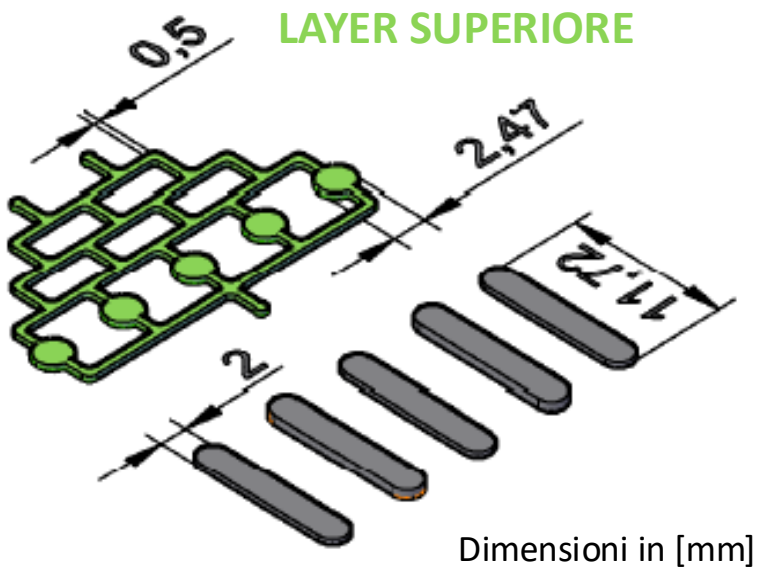


Produzione di strati in PDMS mediante tecnica di replica molding



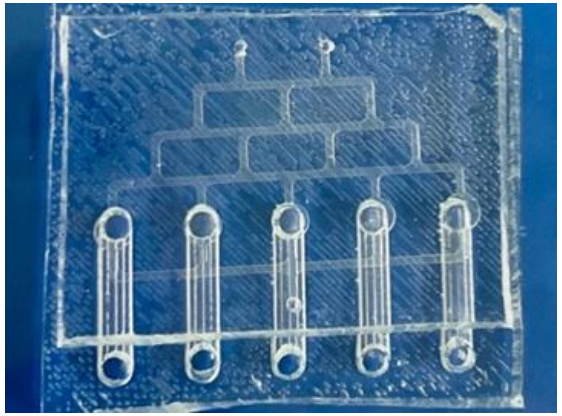
PROGETTAZIONE DELLA PIATTAFORMA MICROFLUIDICA

PROGETTAZIONE CAD DEL DISPOSITIVO



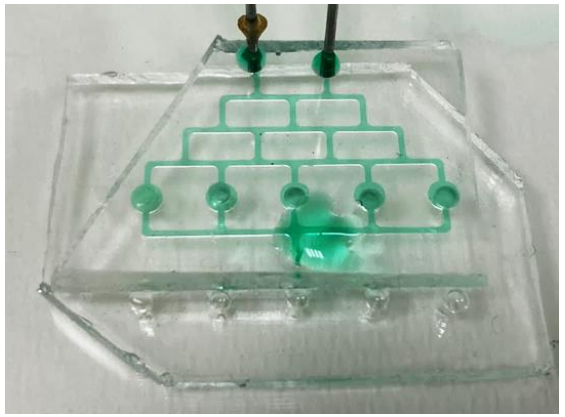
Dimensioni in [mm]

DISPOSITIVO FINALE IN PDMS



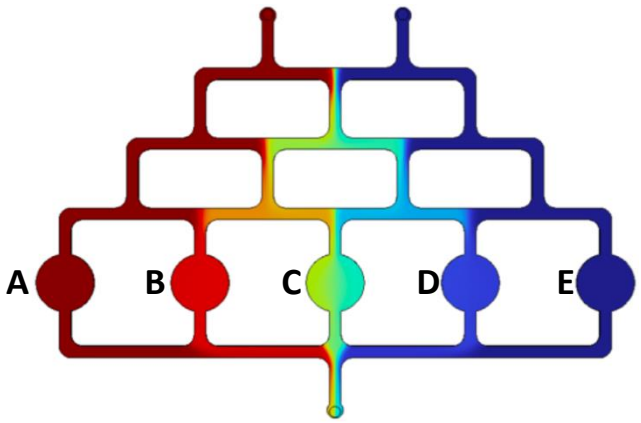
Dispositivo assemblato mediante trattamento al plasma

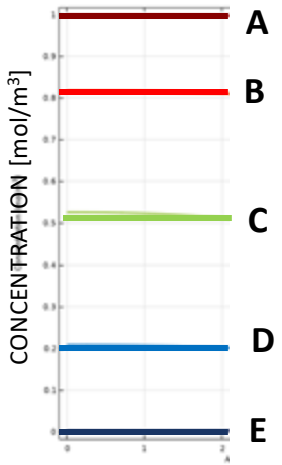
Colorante verde iniettato nello strato superiore del dispositivo



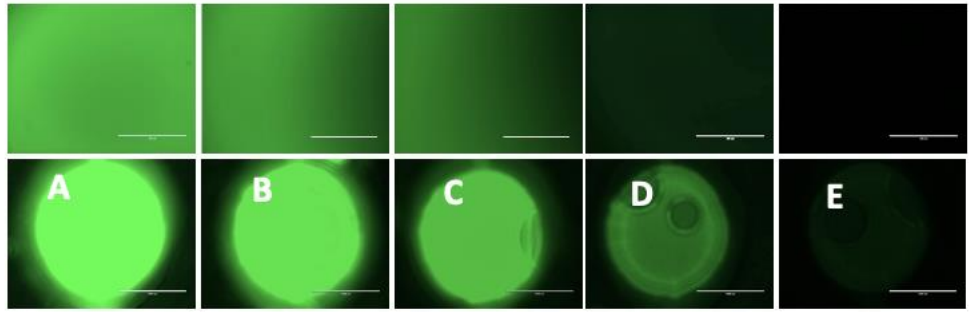
VALIDAZIONE FLUIDODINAMICA

COMSOL Multiphysics®
Flow rate: 2 µL/min





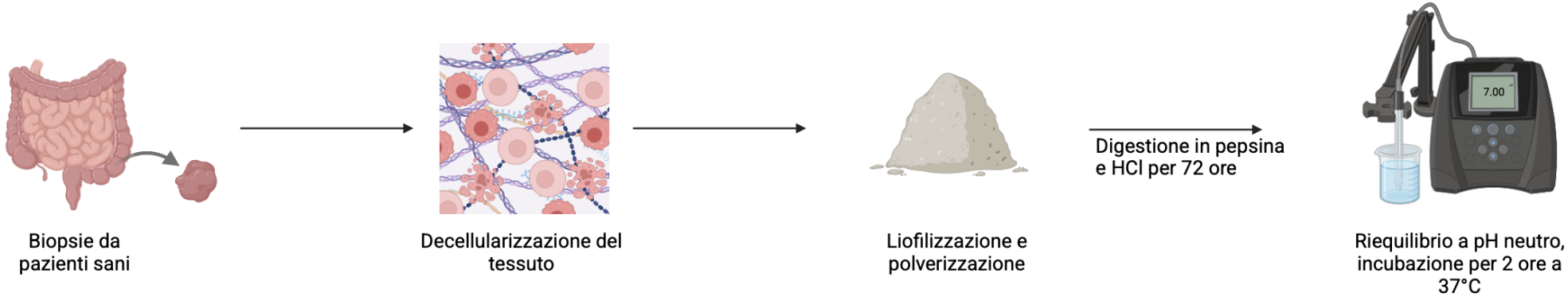
Validazione fluidodinamica della piattaforma microfluidica con **destrano marcato con isotiocianato di fluoresceina**



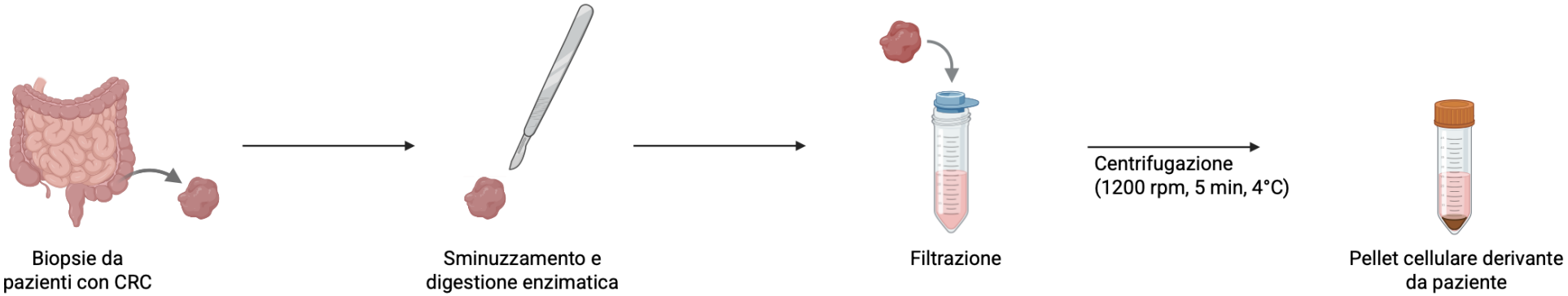
La piattaforma è in grado di generare e mantenere un gradiente di concentrazione stabile per un lungo periodo di tempo.

PRODUZIONE IDROGEL dECM E ORGANOIDI

dECM IDROGEL



ORGANOIDI DERIVATI DA PAZIENTE (PDOs)



PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Assemblaggio dispositivo

1. Replica molding
2. Assemblaggio mediante trattamento al plasma
3. Autoclavaggio

Semina cellule/PDOs

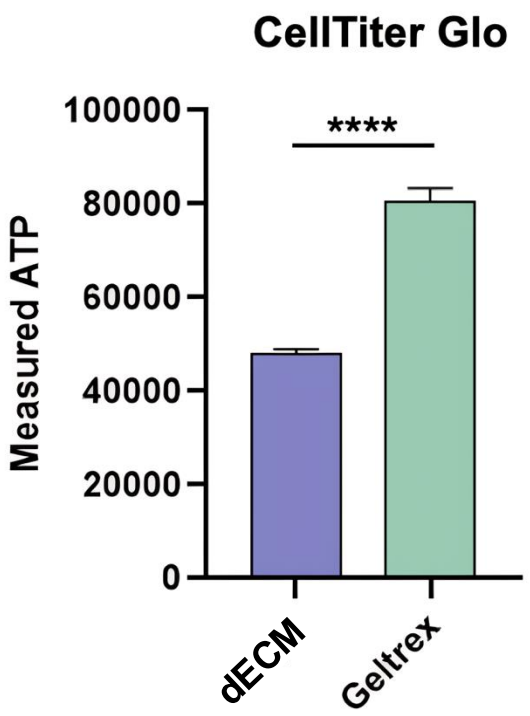
1. Inclusione THP-1/PDOs in idrogel
2. Semina
3. Gelificazione idrogel

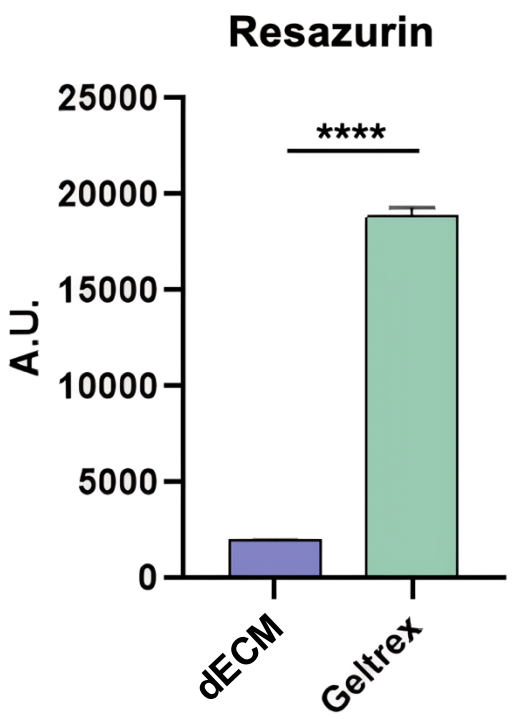
Connessione alla pompa a siringa

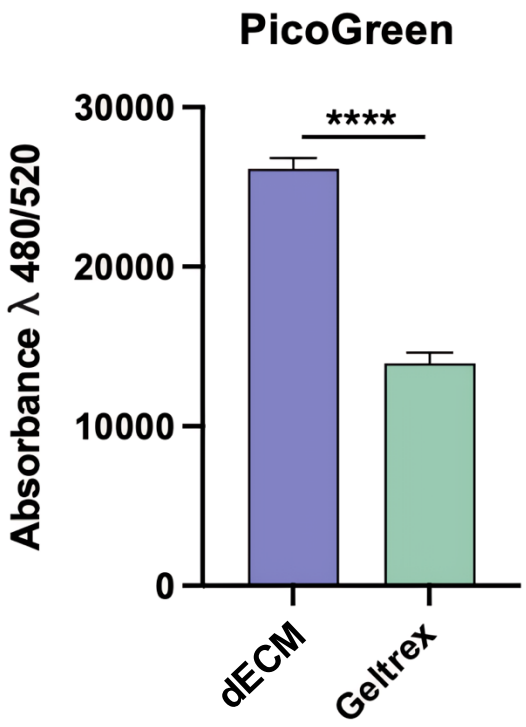
1. Connessione delle siringhe agli inlet del dispositivo
2. Impostazione del flowrate
3. Perfusione di medium fresco/farmaco
4. Dispositivo riposto in incubatore per alcuni giorni

VITALITÁ DI THP-1 IN dECM IDROGEL

7 giorni di coltura all'interno del dispositivo

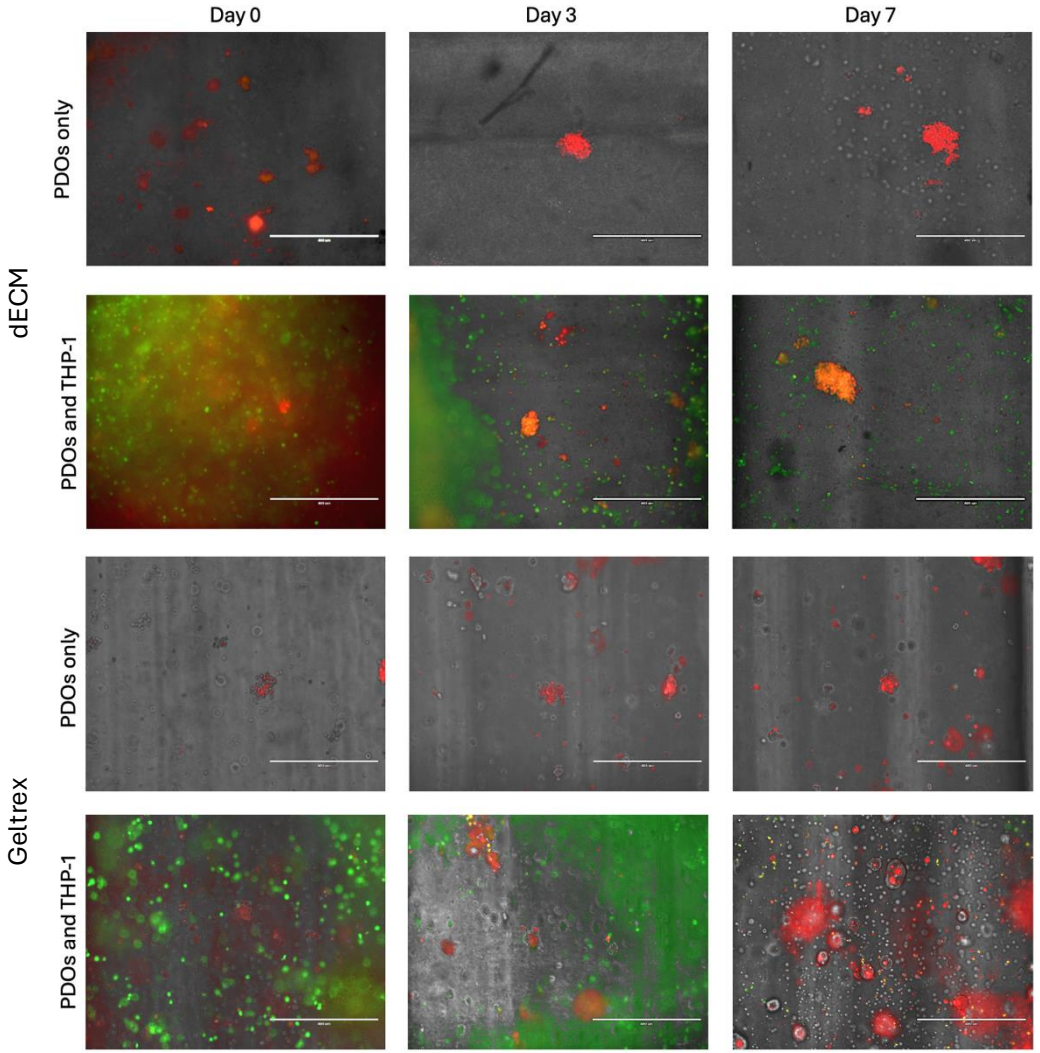






Possibile **shift** delle THP-1 verso un fenotipo **M2**

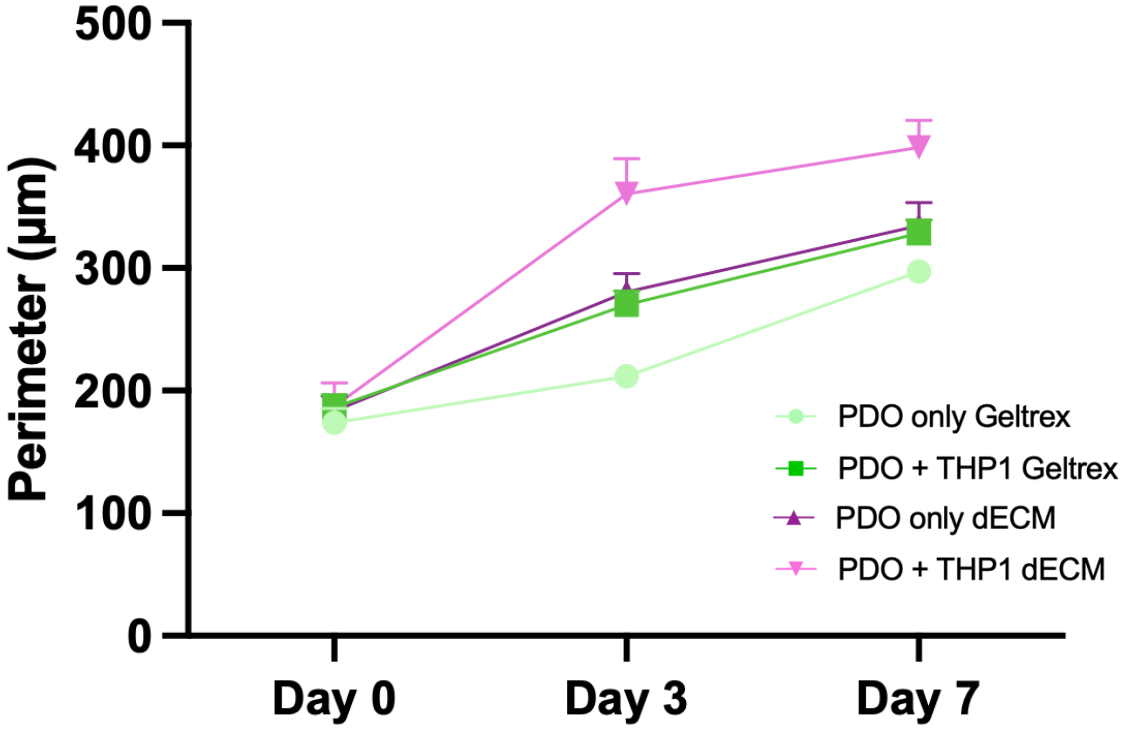
CRESCITA PDOs IN CO-CULTURA CON THP-1



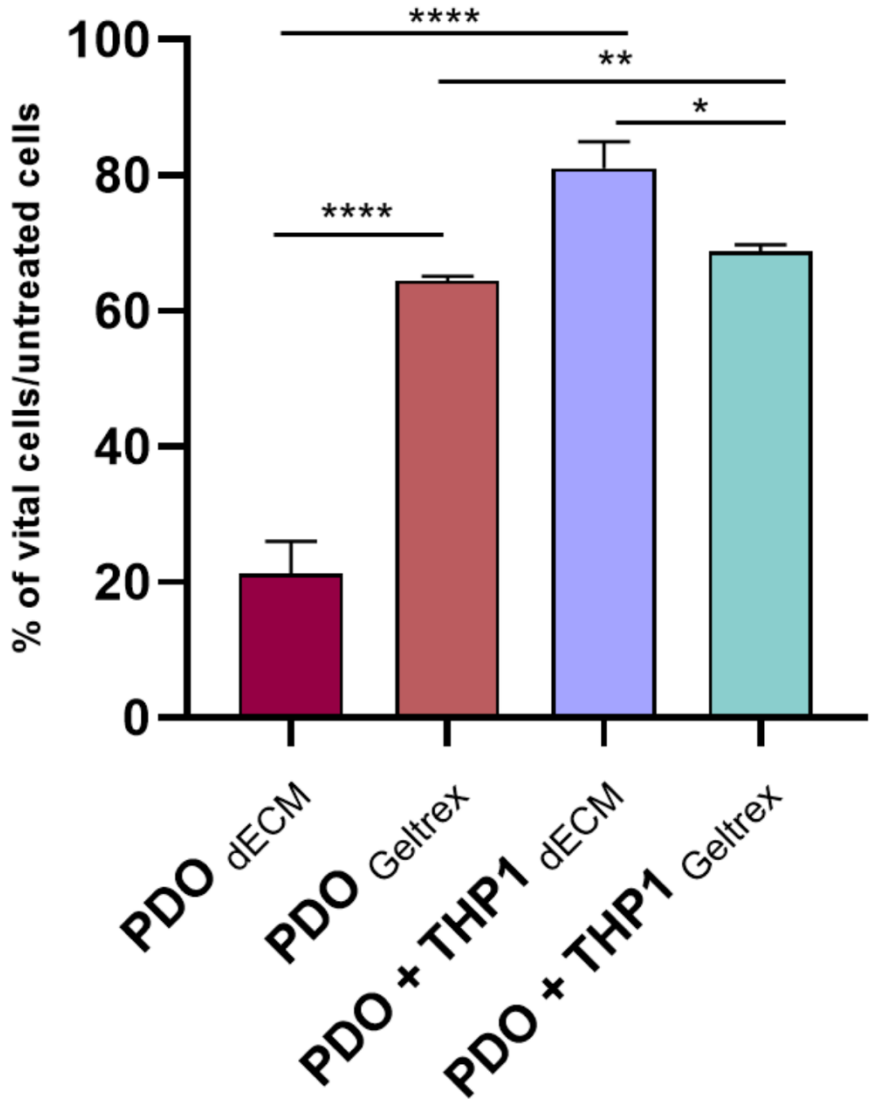
Cell Tracker Red: PDOs

Cell Tracker Green: THP-1

7 giorni di coltura all'interno del dispositivo

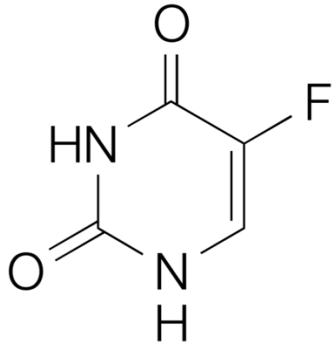


VITALITÀ DEI PDOs POST TRATTAMENTO CON 5-FU

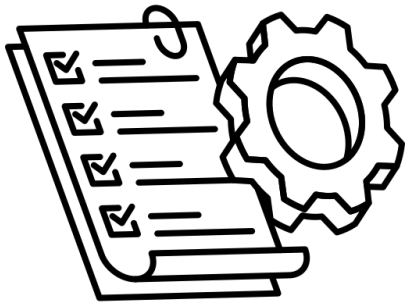


4 giorni di coltura e 72 ore di trattamento con 5-FU all'interno del dispositivo

FARMACO CHEMIOTERAPICO
5 FLUOROURACILE (5-FU)



CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE



CONCLUSIONI

- Il **dispositivo microfluidico** e l'**idrogel dECM** supportano lo **sviluppo dei PDOs** e la loro interazione con il sistema immunitario
- dECM idrogel → **fenotipo protumorale** nei monociti
- Monociti in dECM ↑ **chemioresistenza** (5-FU)

PROSPETTIVE FUTURE

- Sfruttare la capacità del dispositivo di **creare 5 diverse concentrazioni** → maggiore efficienza sperimentale
- Analizzare **ruolo dell'idrogel dECM** nel cambiamento fenotipico dei monociti
- Utilizzo **monociti primari** (derivati da paziente)

DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
INDUSTRIALE

GRAZIE PER L' ATTENZIONE!

biamet

FONDAZIONE
città della speranza